

DIE ROLLE VON AUTOANTIKÖRPERN BEI MÄNNLICHEN FERTILITÄTSSTÖRUNGEN

**ERFAHRUNGEN MIT DEM
MARKOSKOPISCHEN AGGLUTINATIONSTEST,
DEM IMMOBILISATIONSTEST UND DER
INDIREKTEN IMMUNFLUORESCENZTECHNIK**

Michael Kammerl

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551905_0100

AUS DER DERMATOLOGISCHEN KLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

DIE ROLLE VON AUTOANTIKÖRPERN BEI MÄNNLICHEN FERTILI-
TÄTSSTÖRUNGEN
ERFAHRUNGEN MIT DEM MARKOSKOPISCHEN AGGLUTINATIONS-
TEST, DEM IMMOBILISATIONSTEST UND DER INDIREKTEN
IMMUNFLUORESZENZTECHNIK

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Michael Kammerl
aus Ulm

München 1975

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Petzoldt

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 31.7.1975



MEINEN LIEBEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literarische Übersicht	1
1. Antigenität von Samen und Samenplasma	1
2. Entstehung von Autoantikörpern	3
3. Voraussetzung zur Autoantikörperbildung beim Mann	5
4. Untersuchungen zur Entdeckung von Antikörpern gegen Spermatozoen	6
III. Eigene Untersuchungen	10
1. Vorversuche	10
a) Ziel	10
b) Material und Methoden	10
c) Ergebnisse und Diskussion	13
2. Zwischeneinleitung	21
3. Material und Methoden	21
a) Material	21
b) Methoden	21
α) Markoskopischer Agglutinationstest nach Kibrick	21
β) Immobilisationstest nach Isojima	23
γ) Immunfluoreszenztest	25
4. Ergebnisse	26
a) Markoskopischer Agglutinationstest nach Kibrick	26
b) Immobilisationstest nach Isojima	27
c) Immunfluoreszenztest	28
d) Korrelation der Untersuchungsergebnisse	29

	Seite
IV. Diskussion	31
V. Zusammenfassung	36
VI. Literatur	I
VII. Danksagung	VII
VIII. Lebenslauf	VIII

I. Einleitung:

Man vermutet, daß 15-20% der Ehepaare mit unerklärbarer Sterilität Antikörper gegen Spermatozoen haben (1). Das Phänomen der Autoimmunität beim Mann spielt hierbei sicherlich eine Rolle. Es stellt sich also das Problem, einfache Nachweismethoden für diese Antikörper zu finden, die gleichzeitig eine hohe spezifische Aussagekraft besitzen. Obwohl die antigenen Eigenschaften der Spermatozoen schon seit der Jahrhundertwende bekannt sind (Landsteiner 1899, Metchnikoff 1900), wurden erst in den letzten 25 Jahren brauchbare Methoden zur Aufklärung der Immunität in andrologischer Sicht entwickelt. Die neuesten Untersuchungen, die einen Überblick über Bedeutung und Entstehung von Autoantikörpern an einem größeren Patientengut geben, stammen von H. Krieg und G. Reißmann (21) und Rudi Ansbacher (2). In unseren Untersuchungen wurden der makroskopische Agglutinationstest nach Kibrick (20), der Immobilisationstest von Isojima (16) und der indirekte Immunfluoreszenztest (29) an einem unausgelesenen männlichem Patientengut durchgeführt.

II. Literarische Übersicht:

1. Antigenität von Samen und Samenplasma

Spermien und Samenplasma besitzen antigene Eigenschaften und können spezifische Antikörper induzieren (9). Die experimentelle Erzeugung von Antikörpern gegen Spermatozoen im weiblichen Organismus gelang schon sehr früh. Auch zum Zwecke der Kontrazeption wurden solche Versuche an Frauen durchgeführt (9). Baskin injizierte 1932 zwanzig Frauen die Spermien ihrer Männer. 19 Frauen waren danach steril (28).

Die autoimmunologischen Phänomene beim Mann konnten erst 1954 durch Untersuchungen von Rümke (9) und Wilson (9) dargestellt werden. Sie fanden im Blutserum und im Samenplasma Antikörper, die eine Agglutination und Immobilisation der Spermien hervorriefen. Die Samenzelle besitzt nach Untersuchungen von Shulmann (43) mindestens zwei verschiedene Antigene,

von denen eines für den Kopf-, das andere für den Schwanzteil der Zelle charakteristisch ist. Diese Feststellung ergab sich aus den Beobachtungen der verschiedenen Agglutinationstypen. Hansen und Hjort (13) stellten durch Immunfluoreszenzuntersuchungen vier Antigene an Spermatozoen fest. Mit der indirekten Fluoreszenztechnik konnten sie am Akrosom, am Äquatorteil, am Mittelstück und am Schwanzteil Antigene nachweisen. Dagegen berichteten Mancini et al. (25) nur von einem starken Leuchten des Kopfes und des Akrosoms. Mit der selben Methode erkannte Baum (5) in Versuchen mit Meerschweinchen, daß das Akrosom der spezifische Ort für die Antikörperbindung an Spermien ist. Der Gehalt an Mucopolysacchariden des Akrosoms scheint für die Antigenität des Spermias verantwortlich zu sein. Weiter konnte gezeigt werden, daß immobilisierende Antikörper nur mit den Köpfen reifer Meerschweinchenspermatozoen reagieren, aber nicht mit deren Vorstufen. Die Untersuchungen von Holborrow und Weir (4) und Vendrely (4) ergaben, daß am Ende der Spermatogenese eine Umwandlung von Histon in eine protaminähnliche Substanz stattfindet. Es besteht daher der Verdacht, daß bei Meerschweinchen, die mit homologem Hodenmaterial immunisiert worden sind, die Antikörper gegen ein Material gerichtet sind, das zu den Endstufen der Spermatogenese gehört, besonders Protamin. Das Vorhandensein von Antigen im Ejakulat zeigt sich morphologisch durch die Sperma-Agglutination (22). Die Spermagglutinine scheinen spezifisch für Spermatozoen zu sein. Sie agglutinieren weder Erythrozyten noch Leukozyten noch Thrombozyten (34). Nicht immer jedoch ist die Agglutination eine "echte" Sperma-Agglutination. Sie kann auch durch Anlagerung von Spermien an Leukozyten oder an Fremdstoffe und an Epithelzellen entstehen.

Spermagglutinine können im Tierexperiment auch durch Samenplasma anstelle von Spermatozoen induziert werden (37). Dieses Phänomen geht darauf zurück, daß die Spermatozoen im Ejakulat mit einem Bestandteil, dem sog. "spermatozoa-coating-antigen", das von den Samenbläschen sezerniert wird,

überzogen sind. Dieser Bestandteil läßt sich nicht abwaschen. Es können daher bei einer Autoimmunkrankheit der Samenbläschen Spermagglutinine gebildet werden, die dann nur mit Spermatozoen reagieren, die bereits mit der Samenflüssigkeit in Kontakt gekommen sind. Immunelektrophoresen von normalem menschlichem Seminalplasma mit Kaninchenantiserum gegen menschliches Seminalplasma zeigen 11 Präzipitationslinien. Drei davon kommen auch im Blutserum vor. In der Prostata werden drei von diesen seminalplasmaspezifischen Antigenen gebildet, und zwei in den Samenbläschen. Antigene, die im Hoden oder Nebenhoden gebildet werden, waren nicht festzustellen. Ein Prostataantigen ist als saure Phosphatase erkannt worden. Eine Komponente der Samenbläschen ist Lactoferrin, ein Protein, das nicht im Blutserum vorkommt. Lactoferrin konnte auch an der Oberfläche gewaschener Spermatozoen nachgewiesen werden, nicht aber in den Hoden. Das Lactoferrin ist nach Untersuchungen von Hekmann und Rümke (14) das bedeutenste coating-Antigen des Seminalplasmas.

2. Entstehung von Autoantikörpern

Die Bildung von Autoantikörpern gegen den eigenen Samen beim Mann widerspricht nicht der sog. Immuntoleranz, nach der jeder Organismus im wesentlichen seine eigenen Immunmechanismen während der adaptiven Phase, die meistens etwa zum Zeitpunkt der Geburt oder knapp nachher abgeschlossen ist, aufbauen muß. Die reifen Samenfäden bilden sich aber erst nach der Pubertät, also lange Zeit nach Abschluß der adaptiven Phase. Ein Übertritt solcher Substanzen unter pathologischen Bedingungen in die Blut- oder Lymphbahn kann also, obgleich sie körpereigen sind, zur Ausbildung von Antikörpern führen (3). Rümke (39) stellte Untersuchungen an Ratten an, um die Antikörperbildung zu erforschen. Bei erwachsenen Ratten konnten zirkulierende Agglutinine zufällig gefunden werden, aber nie über einem Titer von 1:20. Injizierte man männlichen Ratten des gleichen Stammes große Mengen ungewaschener Spermatozoen ohne Adjuvans, so erzeugten sie Spermagglutinine. Der höchste Titer lag bei 1:2560 sieben Tage nach der Injektion von $1,5 \times 10^9$ Spermatozoen. Spezifische Spermagglutinine wurden auch nach Vasoligatur gefunden und alle Tiere mit ein-

seitiger Vasektomie entwickelten Antikörper. Die Antikörperbildung hörte nach Beseitigung des Hodens und Nebenhodens der operierten Seite auf. Die Anwesenheit von Spermagglutininen im Serum dieser Tiere hatte weder Einfluß auf Spermatogenese noch Fertilität der Ratten. Aus weiteren eingehenden Tierversuchen (9) zeigte sich, daß die Autoantikörperbildung gegen Spermien auf eine traumatisch, operativ oder infektiös bedingte Extravasation der Spermien und ihre Alteration, Phagozytose und Resorption zurückgeführt werden kann.

Nach der Immunisierung von Tieren mit Spermien konnte man neben der Antikörperbildung auch eine Hemmung der Spermiogenese beobachten. Dieser Effekt konnte beim Meerschweinchen durch Injektion von homologem Hodenhomogenat mit komplettem Freund'schem Adjuvans verstärkt und reproduziert werden. Damit war die experimentelle Induktion der Autoimmunorchitis beim Meerschweinchen gelungen (10, 26). Obwohl das Krankheitsbild einer autoimmunologisch bedingten Orchitis in der andrologischen Praxis noch unbekannt ist, so ist doch der Befund einer pathogenetischen Bedeutung von Spermienautoantikörpern bei Orchitis nicht von der Hand zu weisen (12). Nach den derzeitigen Vorstellungen ist anzunehmen, daß es unter dem Einfluß einer Virusinfektion zu einer Proteinalteration kommt, so daß die Spermatozoen körperfremd erscheinen, antigen wirksam werden und damit die Autoantikörperbildung einleiten. Aus Beobachtungen der Orchitis und Mumpsorchitis ergab sich, daß ein Antigen aus den Samenbläschen oder Nebenhoden stammt und an die Spermatozoen fest angelagert wird. Haensch (12) erkannte jedoch, daß es nicht nur dieses "spermatozoa-coating-antigen" gibt, sondern auch im Hoden selbst während einer Orchitis Spermatozoen antigen wirksam werden können. Der Endzustand der Autoimmunorchitis besteht in einem völligen Verschwinden der Spermatogenesezellen bei erhaltenen Sertolizellen; ein Bild, das dem Sertolizellsyndrom des Mannes entspricht (31).

3. Voraussetzungen zur Autoantikörperbildung beim Mann

Eine pathologisch gesteigerte Spermienresorption scheint für die Antikörperbildung entscheidend zu sein. Bandhauer (3) hält weniger die Quantität physiologischer Resorptionsvorgänge für die Autoimmunisierung für verantwortlich, als vielmehr pathologische Resorptionen im Rahmen von Entzündungen. Dagegen sieht Rümke (35) in der vermehrten Resorption von Spermatozoen ohne entzündliche Begleiterscheinungen schon einen Faktor zur Antikörperbildung. Zu solchen pathologischen Resorptionen kommt es bei Verschuß der ableitenden Samenwege oder bei entzündlichen Erkrankungen von Hoden oder samenableitenden Organen (30).

Bei Männern mit Obstruktion der efferenten Ductus bzw. mit Epididymitis und Prostatavesculitis treten vermehrt Spermagglutinine und Immobilisine auf. Bei Männern mit Azoospermie fanden sich in der Mehrzahl dann Antikörper, wenn diese auf einem doppelseitigen Verschuß der abführenden Samenwege beruhte und nicht auf einer Degeneration des Hodenparenchyms (37). Untersuchungen von Phadke und Padunke (32) ergaben, daß acht von 25 vasktomierten Männern Spermagglutinine im Serum in einem Titer von 1:80 und höher aufwiesen. Diese Ergebnisse werden durch weitere Autoren in jüngster Zeit bestätigt (1, 42). Niedrigere Spermagglutinititer wurden bei Männern mit einer kongenitalen Aplasie der Vasa deferentia gefunden. Rümke und Hellinga (34) untersuchten 67 Patienten mit Spermagglutininen im Serum. Davon wiesen 21 eine Azoospermie auf. Von diesen hatten 16 einen Verschuß des Ductus efferens auf beiden Seiten mit normaler Spermatogenese. Von 172 Patienten mit Azoospermie ohne Spermagglutinine im Serum hatten nur 45 Patienten einen Verschuß des Ductus efferens mit normaler Spermatogenese. Weiterhin zeigte von 4 jüdischen Männern, die im dritten Reich sterilisiert worden waren, einer Spermagglutinine von einem hohen Titer. Warum nicht jeder Mann mit Obstruktionen der efferenten Ductus Autoantikörper gegen Spermatozoen produziert, führt Rümke (38) auf mehrere Faktoren zurück. In der Mehrzahl der Fälle hemmt wahrscheinlich eine physiologische Phagocytose im Lumen die Antikörperbildung. Eine weitere Bedeutung haben die höheren IgA-, IgG und IgM-Gehalte im Serum von Patienten,

die von vornherein für eine größere Antikörperbildung prädestiniert sind.

Im allgemeinen sind die Spermagglutinintiter im Seminalplasma viel niedriger als die Seruntiter, was sicherlich mit dem niedrigen Gammaglobulingehalt des Seminalplasmas in Verbindung steht. Zirkulierende Autoantikörper gegen Spermatozoen beim Mann sind jedoch keine absolute Sterilitätsursache (11, 39, 26, 21, 32).

4. Untersuchungen zur Entdeckung von Antikörpern gegen Spermatozoen:

Der makroskopische Agglutinationstest nach Kibrick und der Immobilisationstest nach Isojima sind die in der Literatur am häufigsten angegebenen Untersuchungsmethoden zur Darstellung von Antikörpern gegen Spermatozoen im Serum von Patienten. Die Testmethoden sind im Aufbau einfach und weisen dennoch eine ausreichende Spezifität auf. Im Prinzip werden bei beiden Tests Spermatozoen (Antigen) von Spenderejakulaten mit Patientenserum inkubiert. Das Ergebnis wird direkt makroskopisch bzw. unter dem Mikroskop abgelesen.

Der Immunfluoreszenztest eignet sich zum Nachweis einer Antigen-Antikörper-Reaktion an der Oberfläche der Spermien. Seine Spezifität hängt weitgehend von der Spezifität des verwendeten Antisera ab.

Rümke (35) untersuchte 1913 Männer, die die Amsterdamer Fertilitätssprechstunde aufsuchten und fand bei 3,2 % Agglutinine im Blutserum. Seine Untersuchungen wurden mit dem makroskopischen Agglutinationstest durchgeführt. Eine Tierbestimmung nahm er nach folgendem Schema vor: 1 : 4 - 1 : 16 schwach positiv

1 : 32 - 1 : 128 positiv

über 1 : 256 stark positiv.

Unterschiede im Titer schreibt er den Variationen in der Motilität der Spermatozoen und den Bestandteilen des Samenplasmas zu. Eine Differenz zwischen 11,9 % und 3,1 % positiven Fällen, wenn zwei Proben von Spermatozoen zum Testen von 294 Serumproben verwendet wurden, konnte ebenfalls auf Grund von Variationen in der Qualität der verschiedenen Spermatozoenproben erklärt werden. Bei mikroskopischen

Untersuchungen von spermagglutinierenden Seren zeigten sich verschiedene Schemata der Agglutination. Es traten sowohl Kopf-zu-Kopf - als auch Schwanz-zu-Schwanz-Agglutinationen auf. Manche Seren zeigten beide Agglutinationstypen gemeinsam. Bei einer Reihe von 64 Patienten überwog 58mal die Schwanzagglutination. Zwischen der Gegenwart von Immobilisinen und dem Agglutinationstyp wurde keine Korrelation gefunden. Phadke und Padukone (32) fanden bei 50 Männern mit Azoospermie mit dem makroskopischen Agglutinationstest 13 Seren mit Autoantikörpern. Sie betrachteten den Test als positiv, wenn der Antikörpertiter 1:80 oder höher lag. In einer Untersuchung von Rangnekar et al. (33) konnte gezeigt werden, daß der Spermagglutinationstest nicht von Blutgruppenantigenen gegen Spermien beeinflußt wird. Es spielen auch vorhandene Blutgruppenantikörper im Testserum keine Rolle.

Isojima et al. (17) untersuchte die Blutseren von Frauen mit unerklärbarer Sterilität. Dabei kam er zu dem Ergebnis, daß Spermimmobilisine nur in diesen Fällen gefunden werden konnten. Bei der Auswertung des Tests wird die Zahl der beweglichen Spermatozoen unter 50 Spermatozoen im Gesichtsfeld des Mikroskops ausgezählt. Es werden vier verschiedene Gesichtsfelder begutachtet. Der Prozentsatz der beweglichen Spermatozoen unter den 200 Spermatozoen wird ausgerechnet. Das gleiche Verfahren wird beim Kontrollansatz durchgeführt. Der Immobilisationstest ist dann positiv, wenn der Quotient der Motilitäten von Kontrollserum zu Testserum größer 2 ist. Auch Lehmann (23) gibt an, daß der Immobilisationstest nur positive Ergebnisse in Fällen von unerklärbarer Sterilität bei Frauen angibt. Dagegen spricht der Agglutinationstest auch dann an, wenn die Sterilität der Frau bereits anderweitig bedingt ist. Lehmann fand heraus, daß die Komplementlösung selbst immobilisierend auf die Spermien wirkt. Er reduziert daher die Komplementmenge im Testansatz auf $\frac{1}{200}$ ml statt $\frac{1}{20}$ ml. Nach einem Vergleich mit dem makroskopischen Agglutinationstest zeigt sich, daß die Zahl der positiven Tests etwa doppelt so groß ist wie im Immobilisationstest. Daraus schloß Lehmann, daß der Immobilisationstest spezifischer reagiert. Jones (18) gibt an, daß die Interpretation des Resultats beim Immobilisa-

tionstest schwierig wird, wenn die Motilität des Testejakulats unter 80% liegt. Den makroskopischen Spermagglutinationstest und den Spermmobilisationstest führte Ansbacher (1) an 554 Ehepaaren durch. 4,9% der Männer hatten in beiden Tests übereinstimmend positive Ergebnisse. Dagegen waren niemals beide Ehepartner gleichzeitig positiv. Nur beide Tests bringen ein klares Ergebnis bei immunologisch bedingter Unfruchtbarkeit. Die neuesten vergleichenden Untersuchungen führten Krieg und Reißmann (21) durch. Mit den Seren von 216 Frauen, Männern und Kindern wurden der Spermatozoenimmobilisationstest, der mikroskopische Agglutinationstest und die passive Hämagglutination nach Boyden durchgeführt. Selbst mit Seren von Kindern wurden positive Ergebnisse beobachtet. Es gab keine Zusammenhänge der positiven Reaktionsausfälle weder zwischen infertilen und fertilen Frauen, noch zwischen infertilen und fertilen Männern. Der Grenzquotient beim Immobilisationstest sollte nach Auffassung der Autoren von 1,9 auf 4 erhöht werden, um falsch positive Reaktionen auszuschalten. Es konnte nur eine teilweise Übereinstimmung positiver Befunde unter den drei Methoden festgestellt werden. Auch bei einem erneuten Vergleich mit dem makroskopischen Agglutinationstest war keine Übereinstimmung der positiven Reaktionen zu erreichen. Mit den Seren der Kinder war der Kibrick-Test stets negativ. Zum Nachweis einer Immunisierung mit Ejakulatbestandteilen eignen sich nach Ansicht von Krieg und Reißmann der Immobilisationstest nach Isojima mit einem Immobilisationsquotienten von 4 und der makroskopische Agglutinationstest nach Kibrick.

Bei Immunfluoreszenzuntersuchungen an weiblichen Patienten stellten Lüders und Adam (24) fest, daß erst Serumtiter von 1:200 als beweisend für effektive spezifische Antikörper angesehen werden können. Im Immunfluoreszenzbild fanden sie die Kopffluoreszenz am weitaus intensivsten. Auffällig war auch die starke und deutlich abgesetzte Fluoreszenz des Mittelstückes gegenüber dem Spermatozoenschwanz. Bezogen auf die Ultrastruktur der Spermatozoen heißt dies, daß besonders die Anteile antigene Wirksamkeit zeigen, die noch Cytoplasmareste aufweisen und mitochondrienreich sind. Hansen und Hjort (13) konnten Fluoreszenzerscheinun-

gen am Akrosom, im Äquatorteil, am Mittelstück und am Schwanz von Spermatozoen erkennen und setzten dies mit dazugehörigen Antigen-Antikörper-Systemen gleich. Beck et al. (6) inkubierte Serum von erwachsenen Meerschweinchen, Kaninchen und Mäusen mit homologen und heterologen Spermatozoen. Dabei trat eine Fluoreszenz der Akrosome auf. Die größte Leuchtintensität wurde mit Kaninchen- und Meerschweinchenspermatozoen erreicht. Die Fluoreszenz bei noch nicht geschlechtsreifen Kaninchen und Meerschweinchen war schwach und verschwand nach der Erhitzung des Serums. Unterschiede in der Leuchtstärke werden hauptsächlich auf die Art der Spermatozoen und nicht so sehr auf die Art des Serums zurückgeführt. Kaninchen, die mit homologem Samenmaterial immunisiert wurden, wiesen in ihrem Serum nie eine Fluoreszenz des Schwanzteils der Spermatozoen auf. In einem Vergleich zwischen mikroskopischem Agglutinationstest und Immunfluoreszenztest weist Feltkamp (7) darauf hin, daß nur dann ein Leuchten der Spermienköpfe auftritt, wenn auch eine positive Agglutination vorhanden ist. War keine Agglutination vorhanden, und war der Fluoreszenztest trotzdem positiv, so leuchteten nur die Spermienchwänze. Es besteht also ein Zusammenhang zwischen Agglutination und Fluoreszenzerscheinungen. Keine Verbindung konnte zwischen Agglutinationsart und der Lokalisation der Fluoreszenz gefunden werden. Die gleiche Aussage trifft Rümke (36) in seinen Untersuchungen.

III. Eigene Untersuchungen:

1. Vorversuche:

a) Ziel:

In den Vorversuchen kam es darauf an, einen möglichst hohen Antikörpertiter im Serum von Versuchstieren zu erhalten, um über ausreichend Heteroantikörper gegen menschliche Spermatozoen für Testzwecke zu verfügen. Die Erfahrungen aus diesen Versuchen sollten einen reibungslosen Ablauf der späteren Hauptuntersuchung gewährleisten. Zum späteren Vergleich mußte ein sicher positives Testbild vorhanden sein. Auch der Übergang vom noch positiven zum bereits negativen Bild spielte eine entscheidende Rolle, um später Grenzfälle richtig einordnen zu können.

b) Material und Methoden:

Als Versuchstiere wurden drei Kaninchen verwendet. Diese wurden mit menschlichen Spermatozoen immunisiert. Frisch gewonnenes Ejakulat von Patienten der andrologischen Sprechstunde der Dermatologischen Universitäts-Klinik München wurde gesammelt und in Sediment (Spermatozoen) und Überstand (Samenplasma) getrennt (1500 U/Min., 20 min). Die Spermatozoen wurden dreimal mit 0,9% Kochsalzlösung gewaschen (1500 U/Min., 5 min). Die gewaschenen Spermatozoen wurden im Kühlschrank bei -25°C eingefroren und aufbewahrt. Vor der Immunisierung wurde allen drei Versuchstieren je ca. 3 ml Blut abgenommen, um nachweisen zu können, daß sich keine Antikörper gegen Spermatozoen im Serum befanden. Das Blut wurde 10 Min. bei 3000 U/Min. zentrifugiert und das Serum in kleinen Portionen (ca. 1 ml) bei -25°C im Kühlschrank eingefroren und aufbewahrt.

Zur Immunisierung der Tiere wurde eine Suspension aus gleichen Teilen gewaschener Spermatozoen und komplettem Freund'schem Adjuvans hergestellt. Die Suspension wurde drei Wochen lang im Abstand von genau 7 Tagen verabreicht. Die Injektion erfolgte subcutan in Nähe der Lymph-

abflußgebiete. Die injizierte Menge wurde von Woche zu Woche gesteigert:

- 1. Woche: 0,5 ml pro Tier
- 2. Woche: 0,7 ml pro Tier
- 3. Woche: 1,0 ml pro Tier

Eine Woche nach der letzten Injektion wurde den Versuchstieren je ca. 3 ml Blut abgenommen. Es wurde kontrolliert, ob eine erfolgreiche Sensibilisierung der Kaninchen vorlag.

14 Tage nach der letzten Blutentnahme wurde eine Boosterinjektion durchgeführt. Dabei wurde Antigen ohne Freund'sches Adjuvans verwendet. Gewaschene Spermatozoen wurden zu gleichen Teilen mit 0,9% steriler Kochsalzlösung versetzt. Es erfolgten vier Injektionen im Abstand von genau zwei Tagen mit je 0,2 ml; 0,2 ml; 0,4 ml und 0,8 ml Suspension pro Injektion und Tier. 8

Tage nach der letzten Injektion wurde den Versuchstieren aus der Ohrvene jeweils ca. 15 ml Blut entnommen. Das Blutserum wurde abzentrifugiert und in 1-ml-Portionen bei -25°C tiefgefroren.

Zum Nachweis von Antikörpern im Blutserum der Tiere wurden der Geldiffusionstest nach Ouchterlony (27), der makroskopische Agglutinationstest nach Kibrick, der Immobilisationstest nach Isojima und der indirekte Immunfluoreszenztest durchgeführt.

Der Geldiffusionstest wurde mit Sørensen-Puffer durchgeführt:

Lösung A:	KH_2PO_4 ($\frac{1}{15}$ M)	4,5 g	A+B zu pH 7:
	dest. H_2O	ad 500 ml	38,9 ml Lösung A
Lösung B:	Na_2HPO_4 ($\frac{1}{15}$ M)	4,735g	+
	dest. H_2O	ad 500 ml	61,1 ml Lösung B

Agaransatz:

- 50 ml Sørensen-Puffer
- + 0,5g Agar
- + 0,005 g Merthiolat

Für die Herstellung der Agargele wurde der LKB Mikroimmunodiffusions-Set verwendet. Zur Methode siehe Schill und Schumacher

(41). Die Agaransätze wurden ca. 20 Minuten in einem Erlenmeyerkolben gekocht. Drei nebeneinander liegende Objektträger wurden mit 11,5 ml Agar gleichmäßig beschichtet. Nach dem Erkalten werden je zwei Rosetten auf einen Objektträger gestanzt, wobei sich im Zentrum der Rosette das größte Loch als Antigenreservoir befindet. Die sechs äußeren Löcher dienen zur Aufnahme des Kontroll- und Testserums.

Als Kontrollserum verwandten wir das Kaninchenserum der Testtiere vor ihrer Immunisierung. Die Austitrierung des Testserums erfolgte der Löcheranzahl einer Rosette entsprechend von 1:2 bis 1:32. Die Verdünnungen wurden mit 0,9% NaCl hergestellt. Zum Beschicken der Rosetten mit Sperma und Serum wurden selbsthergestellte Mikropipetten verwendet. Dazu wurden handelsübliche Pasteurpipetten über dem Bunsenbrenner zu feinen Kapillaren ausgezogen. Die nach einer Diffusionszeit von 48 Stunden erhaltenen Agarplatten wurden 7 Min. lang in Amidoschwarz 10 B angefärbt. Danach wurden die Objektträger in das Differenzierbad gegeben, um die Präzipitationslinie sichtbar zu machen.

Der makroskopische Agglutinationstest nach Kibrick et al. (20) wurde wie in der Literatur beschrieben übernommen. Das Testejakulat stammte von Patienten der andrologischen Sprechstunde. Es muß für jeden Versuch frisch verarbeitet werden. Für den Test ist eine Motilität von 80% und eine Spermiedichte von wenigstens 100 Mill/ml erforderlich. Das Ejakulat sollte auch möglichst wenig zelluläre Rückstände enthalten, um die spätere Sedimentbildung nicht zu verfälschen. Zu einem Testansatz gehören mindestens ein Röhrchen mit Kontrollserum und ein Röhrchen mit reiner Kochsalzlösung. Als Kontrollserum wurde Blutserum nicht immunisierter Kaninchen verwendet.

Das Testejakulat für den Immobilisationstest nach Isojima et al. (16) stammte ebenso von Patienten der andrologischen Sprechstunde. Eine Motilität von 80% und eine Spermienzahl von wenigstens 60 Mill/ml sind Voraussetzung. Als Komplement wurde Meer-schweinchenkomplement von Behring ORAZ $\frac{14}{15}$ verwendet. Das Kontrollserum wurde von nicht immunisierten Kontrolltieren gewonnen. In Abwandlung von Isojima wurden die Testansätze bei

36° C inkubiert. Ferner wurde die indirekte Immunfluoreszenzmethode zum Nachweis von Antikörpern gegen Spermatozoen im Serum der Testtiere angewandt (Prinzip und Methode siehe Petzoldt 1968). Als fluoreszenzmarkiertes Antiserum wurde Antihuman-gammaglobulin verwendet.

c) Ergebnisse und Diskussion:

Ein Versuchstier ging in der zweiten Woche der Immunisierung wahrscheinlich an einer Sepsis, durch einen Spritzenabszess verursacht, ein. Der Geldiffusionstest brachte mit dem Serum der ersten Blutabnahme bei Versuchstier II keine Präzipitationslinie. Versuchstier I ließ eine deutliche Präzipitation bei einer Serumverdünnung von 1 : 2 und 1 : 4 erkennen. Es bestand also nur bei Versuchstier I ein Hinweis auf Antikörper gegen Spermatozoen. Mit dem Blutserum der Tiere nach der Boosterinjektion wurde wiederum der Geldiffusionstest nach Ouchterlony durchgeführt. Dieses Mal wurden die Konzentrationen des Antigens verschiedenartig gewählt. Es wurde mit 0,9 % NaCl bis zu einer Verdünnung von 1 : 16 austitriert. Bei der Antigenverdünnung von 1 : 4 und höher zeigten sich bei Tier II mit der Serumverdünnung 1 : 2 zwei Präzipitationslinien. Diese waren immer nur bei der niedrigsten Serumverdünnung sichtbar. Drei Linien konnten bei der Antigenverdünnung 1 : 18 gesehen werden. Die Ursache hierfür waren wahrscheinlich hochmolekulare Antikörper oder unspezifische Reaktionen. Einen Überblick über die Versuchsergebnisse gibt die Tabelle:

	Antigenverd.	konz.	1:2	1:4	1:8	1:16
Tier I	Serum- verd.	1:2	+	+	+	+
		1:4	+	+	+	+
		1:8	+	+	+	+
		1:16	-	-	-	-
Tier II	Serum- verd.	1:2	+	+	+ ¹⁾	+ ²⁾
		1:4	+	+	+ ¹⁾	+
		1:8	+	+	+	+
		1:16	+	-	-	-

ad 1): Zwei Linien sichtbar

ad 2): Drei Linien sichtbar

Ein + bezeichnet eine sichtbare Präzipitationslinie bei der jeweiligen Serumverdünnung.

Der Agglutinationstest war bei einem ersten Versuch bei beiden Tieren bis zu einer Serumverdünnung von 1:256 positiv. Eine weitere Versuchsanordnung brachte folgende Ergebnisse:

Tier I: 1:4096 +
1:8184 +

Abbildungen zum Versuch
siehe S. 20

Tier II: 1:2048 +
1:4096 -

Beide Seren wurden dabei bis zur Verdünnung 1:16384 austitriert. Der Übergang vom positiven zum negativen Testbild wurde mit ⁺ gekennzeichnet. Bei weiteren Versuchen konnte kein so hoher Antikörpertiter mehr erzielt werden. Eine entscheidende Rolle für ein gutes und genaues Ergebnis spielt die Güte des verwendeten Testejakulats. Es stellte sich bei Versuchen immer wieder heraus, daß eine zu geringe Motilität oder ein unreines Ejakulat die Aussage des Tests in Frage stellt oder gänzlich verfälscht. Bei der Auswertung des makroskopischen Agglutinationstests ist das verglei-

chende Betrachten der Kontrollseren, der NaCl-Kontrolle und des Testserums unumgänglich. Durch die Verwendung von Testejakulaten verschiedener Personen ist ein Vergleich von unterschiedlichen Testreihen kaum möglich. Das Ablesen der Ergebnisse bei diesem Versuch wird sicherlich immer durch subjektive Einflüsse bestimmt sein. Daher ist es wichtig, ein großes Arsenal von positiven und negativen Testbildern zu begutachten, um in jedem Fall eine genaue, möglichst objektive Aussage treffen zu können. Das Betrachten der Teströhrchen erfolgt am besten vor einer Lichtquelle im Hindurchschauen. Dabei beurteilt man gleichzeitig immer mehrere Röhrchen mit Test- und Kontrollseren. Als vorteilhaft hat sich erwiesen, die Testanordnung bereits nach einer Stunde im Brutschrank kurz zu betrachten. Bei positiven Seren zeigt sich bereits nach dieser Zeit ein charakteristisches Ausflocken der Spermatozoen. Beim positiven Testbild setzt sich am Boden der Röhrchen ein Sediment ab. Dieses wirkt flockig und ist gegen den Überstand nicht scharf abgegrenzt. Es besteht aus den agglutinierten Spermatozoen, die sich durch ihr größeres Gewicht im Zeitraum der Inkubation am Boden angesammelt haben. Der Überstand muß klar sein, kann aber noch einige Flocken enthalten. Das negative Bild beim Kontrollserum weist dagegen ein gleichmäßig opakes Aussehen auf. Meistens ist auch hier ein kleines Sediment vorhanden, das aber dann als scharf abgegrenzter Kreis den Boden des Röhrchens bedeckt. Es handelt sich dabei um unbewegliche Spermatozoen und Zellrückstände. Ein wichtiges Merkmal ist beim positiven Bild der klare Überstand mit großen Flocken. Beim negativen Bild ist nur eine homogene, undurchsichtige Flüssigkeitssäule zu sehen. Bei niederen Temperaturen wird die Gelatine, die in einer Konzentration von 2,5% in den Röhrchen enthalten ist, fest, und so bleibt das Testbild einige Wochen im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ und gut verschlossenen Röhrchen erhalten.

Die im Agglutinationstest positiven Seren der immunisierten Kaninchen zeigten auch im Immobilisationstest Antikörper. Die Testseren beider Tiere wurden bis zu einer Verdünnung von 1:2048 aus-
titriert. Bei Tier I zeigte sich ein Immobilisationstiter von 1:256,

bei Tier II von 1:512. Das Testejakulat hatte eine Beweglichkeit der Spermien von 70% im Kontrollserum, bzw. im Testserum ohne Komplementzugabe. Die Beweglichkeitsreduktionen sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Tier I:	Serumtiter	Mot. Röhr. I	Mot. Röhr. II	
	1:128	10% kräftig	70%	$\frac{II}{I} = \frac{70}{10} = 7 > 2$
	1:512	50%	70%	$\frac{II}{I} = \frac{70}{50} = 1,4 < 2$

Tier II:	Serumtiter	Mot. Röhr. I	Mot. Röhr. II	
	1:512	10% kräftig	70%	$\frac{II}{I} = \frac{70}{10} = 7 > 2$
	1:1024	40% kräftig	70%	$\frac{II}{I} = \frac{70}{40} = 1,75 < 2$

Es konnte also bei beiden Seren kein so hoher Antikörpertiter wie im Agglutinationstest erreicht werden.

Der Fluoreszenztest wurde mit den Blutseren der immunisierten Kaninchen in mehreren Testreihen durchgeführt. Das Serum von Tier I zeigte bis zur Verdünnung 1:3200 ein positives Testbild, das Serum von Tier II bis zur Verdünnung von 1:1600. Eine allgemeine Fluoreszenz aller Spermatozoen war bei sämtlichen Ausstrichen zu erkennen. Jedoch unterschied sie sich in ihrer Intensität sehr stark von der Leuchtstärke des positiven Testbildes. In allen Versuchen, die mit den Tierseren durchgeführt wurden, konnte nur ein starkes Leuchten des Akrosoms der Spermien festgestellt werden. Die Leuchtstärke des Mittelstückes und des Schwanzteiles der Spermatozoen ging nicht über die allgemein vorhandene Fluoreszenz hinaus. Eine interessante Feststellung war, daß bei Verdünnungen bis 1:100 die Intensität der Leuchtkraft mit ansteigendem Titer nicht schwächer wurde. Ein Ausstrich wurde nur dann als positiv bewertet, wenn mindestens 80% der Spermatozoen ein Leuchten aufwiesen,

das erkennbar über der allgemeinen Fluoreszenz lag. Es wurden nur unbeschädigte Spermatozoen bei der Beurteilung berücksichtigt.

Auffallend beim Immobilisationstest war, daß bei der Komplementzugabe zum Kontrollserum jedesmal eine Motilitätsreduktion eintrat. Diese war oft gering, konnte aber manchmal bis zu 20% betragen. Es blieb also nie die volle Beweglichkeit der Spermien, wie sie im Testejakulat vorhanden war, erhalten. Die Komplementzugabe schien also eine gewisse Eigenhemmung auf die Beweglichkeit der Spermatozoen zu haben. In mehreren Untersuchungen stellte sich heraus, daß eine Komplementzugabe von über 0,005 ml pro Testansatz einen beträchtlichen Motilitätsverlust brachte, der keine exakte Beurteilung des Tests zuließ. Eine Versuchsreihe zeigte dabei folgende charakteristischen Eigenschaften:

Testansatz	Motilität
NaCl + Ejakulat ohne Komplement	60%
NaCl + E. + 0,00005 ml Komplement	70%
NaCl + E. + 0,0005 ml K.	70%
NaCl + E. + 0,002 ml K.	70%
NaCl + E. + 0,005 ml K.	70% (teilweise kräftig)
NaCl + E. + 0,05 ml K.	50%
NaCl + E. + 0,1 ml K.	10%

Eine Komplementzugabe unter 0,002 ml schien nicht ausreichend zu sein. Es zeigte sich nämlich bei zu geringen Komplementzugaben eine Beweglichkeit der Spermatozoen im unverdünnten Testserum, wie sie bei einer Komplementzugabe von 0,002 ml bzw. 0,005 ml nicht auftrat. Komplementzugaben von 0,002 ml bis 0,005 ml schienen also am geeignetsten zu sein.

Die Ergebnisse aus unseren Versuchsreihen lassen diesen Schluß zu. Weiterhin wurde festgestellt, daß die Beweglichkeit der Spermatozoen in reiner Kochsalzlösung um ca. 20% zum Nativpräparat reduziert wurde. Folgende Versuchsreihe mit dem Blutserum von Ver-

suchstier I wurde dazu durchgeführt:

Das verwendete Testejakulat zu dieser Untersuchung hatte eine Motilität von 80%.

Testansatz	Motilität
NaCl ohne Kompl.	60% träge
Serum I 1:4 o.K.	80% kräftig (große Agglutinationen + Aggregate)
Serum I 1:8 o.K.	80% kräftig (davon 70% in großen und kleinen Aggl.)
Serum I 1:16 o.K.	80% kräftig (davon 40% in kleinen Aggl. bzw. Aggr.)
Serum I 1:32 o.K.	80% (davon 30% in kleinen Aggl. - Kopf zu Kopf Aggl.)
Serum I 1:64 o.K.	70% (einige große und kleine Aggl.)
Serum I 1:128 o.K.	70% (keine Aggl.)
Serum I 1:256 o.K.	60% (keine Aggl.)
Serum I 1:512 o.K.	70% (keine Aggl.)
Serum I 1:1024 o.K.	50% (eine große Aggl.)
Serum I 1:2048 o.K.	60% (keine Aggl.)
Serum I 1:4096 o.K.	60% (keine Aggl.)
Serum I 1:8092 o.K.	60% (keine Aggl.)

Es zeigt sich also, je höher die Verdünnung des Serums ist, d.h. je größer der NaCl-Anteil und je geringer der Serumanteil wird, desto geringer wird die Motilität. Dieses pendelt sich schließlich bei einem gleichbleibenden Wert, rund 20% unter der Motilität des verwendeten Testejakulats, ein. Das gehäufte Auftreten von Aggregaten und Agglutinationen bei niedriger Serumverdünnung ohne Komplementzusatz läßt sich daraus erklären, daß die verwendeten Kaninchenserum nicht nur Immobilisine, sondern auch Agglutinine besitzen. Den höheren Verdünnungen entsprechend nimmt die Agglutinationshäufigkeit wieder ab. So betrachtet kann der Immobilisationstest ohne Komplementzugabe als mikroskopischer Agglutina-

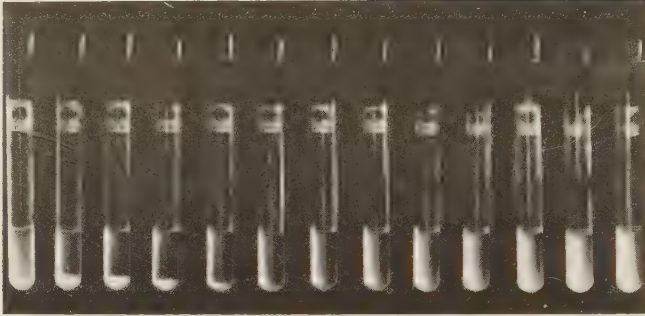
tionstest angesehen werden. Ferner konnte die Komplementunabhängigkeit der Agglutinine festgestellt werden. Bei Komplementzugabe zum Testserum zeigten sich kaum Agglutinationen. Die Immobiline scheinen also während der Inkubationszeit unter Komplementzugabe die Beweglichkeit der Spermatozoen zu hemmen, daß es nur zu wenigen bzw. keinen Agglutinationen kommen kann.

Da Kochsalzlösung (0,9%) auf die Spermatozoen im Ejakulat einen motilitätsverändernden Einfluß hatte, wurde noch eine Reihe anderer Lösungen auf ihr diesbezügliches Verhalten überprüft. Der Testansatz wurde analog dem Immobilisationstest durchgeführt. Statt Blutserum wurden jedoch die verschiedenen Lösungen verwendet. Nach 60 Min. Inkubation bei 36°C zeigten sich folgende Ergebnisse:

Motilität des Testejakulats: 80%

Lösungen	Motilität
NaCl 0,9%	70%
Baker pH 8,2	60%
Baker pH 7,2	75%
Ringer-Lösung	80%
Locke-Lösung	unbeweglich

Da die Baker-Lösung pH 7,2 und die Ringer-Lösung gegenüber physiologischer Kochsalzlösung keine entscheidenden Vorteile brachten, wurden alle folgenden Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung ausgeführt.

Abbildung 1: Kaninchenserum I

von links nach rechts

Kontrolle	Serumverdünnungen											Kontrolle
NaCl	1:2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	16384	NaCl
Bewertung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	

Der kontinuierliche Übergang vom positiven zum negativen Testbild ist deutlich zu erkennen.

Abbildung 2: Kaninchenserum II

von links nach rechts

Kontrolle	Serumverd.	
NaCl	1:2046	1:4096
	+	-

Die Ähnlichkeit der Kontrolle mit dem negativen Testbild ist zu erkennen. Im Gegensatz dazu das charakteristische Bild einer positiven Agglutinationsreaktion.

2. Zwischeneinleitung

Die Tiervorversuche hatten gezeigt, wie die einzelnen Untersuchungsmethoden ansprachen. Die im Serum der Versuchstiere erzeugten Heteroantikörper gegen menschliche Spermatozoen konnten nachgewiesen werden. Die positiven Testbilder waren bei allen Methoden gut ablesbar und unspezifische Reaktionen und Fehlerquellen konnten erkannt werden. Mit diesen Untersuchungsmethoden, der Geldiffusionstest ausgeschlossen, sollte nun versucht werden, Autoantikörper gegen Spermatozoen im Blutserum vom Mann zu entdecken.

3. Material und Methoden

a) Material

Allen Männern, die im Zeitraum vom 15. Juni 1972 bis zum 26. September 1972 die andrologische Sprechstunde der Dermatologischen Universitäts-Klinik München aufsuchten, wurde je 10 ml Venenblut entnommen. Es handelt sich also um ein unausgewähltes Patientengut.

Für die Versuchsreihen des Agglutinations- und Immobilisationstests konnten nur Testejakulate mit ausreichender Spermienzahl (60 Mill/ml) und guter Motilität (70-80%), d.h. Normospermien, verwendet werden. Die Versuche wurden jedesmal mit frischem Ejakulat durchgeführt, das von Probanden gewonnen wurde, deren Spermogramm den Anforderungen entsprach. Für den Immunfluoreszenztest wurde Ejakulat gesammelt und bei +4°C im Kühlschrank aufbewahrt. Das Blut der Testpersonen wurde 10 Minuten bei 3000 U/Min. zentrifugiert und das Serum in ca. 1 ml-Portionen bei -25°C eingefroren und bis zur Testung aufbewahrt.

b) Methoden

α) Makroskopischer Agglutinationstest nach Kibrick

Voraussetzung:

- a) Testejakulat mit 80% Motilität
Spermienzahl mindestens 60 Mill/ml,
wenig Rundzellen
- b) 10%ige Gelatine-Kochsalzlösung (NaCl
0,9%)

Testansatz:

- 1) Ejakulat eine Stunde bei Zimmertemperatur sedimentieren lassen.
- 2) Dekantierten Überstand in der Zählkammer auszählen und mit 0,9% NaCl bzw. Baker's Puffer auf 40 Mill/ml verdünnen.
- 3) Ein Teil Ejakulatverdünnung (40 Mill/ml) + ein Teil 10%ige Gelatinelösung mischen.
- 4) 0,3 ml des Testserums bzw. der Serumverdünnung in ein 8ø mm x 70 mm großes Teströhrchen geben.
- 5) 0,3 ml der Gelatine-Ejakulatmischung hinzufügen und durch Schütteln vermischen.
- 6) Den Inhalt der Röhrchen unter Korkabschluß zwei Stunden bei 36⁰-37⁰C im Brutschrank inkubieren.
- 7) Testergebnis nach zwei Stunden sofort ablesen. Testanordnung im Kühlschrank aufbewahren.

Beurteilung:

Negativ: Homogene Trübung der Testflüssigkeit

Positiv: Klarer Überstand mit einigen großen Flocken, davon gut abgrenzbares Sediment.

Die Blutseren der Patienten wurden zuerst nur bis zu einer Verdünnung von 1:8 getestet. Da oft nur geringe Mengen geeigneten Ejakulats zur Verfügung standen, mußte auf eine höhere Austitrierung verzichtet werden. Sämtliche Seren, die in dieser ersten Versuchsanordnung den Anschein einer positiven Reaktion erweckten, wurden in weiteren Versuchen austitriert. Durch diese Methode des mehrmaligen Testens konnten unspezifische Reaktionen besser erkannt und ausgeschaltet werden. Als Kontrolle wurden Blutseren sicher fertiler Probanden ohne Spontanaagglutinationen im Ejakulat verwendet. Bei hoher Spermiedichte des Testejakulates konnten bis zu 15 Seren und Kontrollen

mit dem selben Ejakulat durchgetestet werden. Die Seren, die nach mehreren Versuchsreihen als positiv erkannt wurden, wurden alle mit dem gleichen Ejakulat getestet. Dadurch war ein Vergleich des Testbildes und somit der Antikörpertiter möglich.

ß) Immobilisationstest nach Isojima

Voraussetzung:

- a) Testejakulat mit 80% Motilität,
Spermienzahl mindestens 60 Mill/ml.
- b) Testserum 30 Min. lang bei 56°C inaktivieren.
- c) Meerschweinchenkomplement (Behring
ORAZ $\frac{14}{15}$)

Testansatz:	0,25	ml inakt. Serum
Röhrchen I:	0,025	ml Testejakulat
	0,0025	ml Komplement
	0,25	ml inakt. Serum
Röhrchen II:	0,025	ml Testejakulat
	---	(kein Komplement)
Teströhrchen:	0,025	ml Testejakulat
	0,005	ml Komplement

Den Röhrcheninhalt durch Schütteln gut vermischen und bei 36°C eine Stunde lang inkubieren. Danach Testansätze wieder resuspendieren und den Inhalt mit einer Pipette aufsaugen. Einen Tropfen auf einen Objektträger geben, mit Deckglas abdecken und mikroskopieren. Beim Teströhrchen darf keine Motilitätsveränderung auftreten.

Beurteilung:

Test positiv, wenn

$$\frac{II}{I} > 2, \text{ d.h. die Reduktion der Be-} \\ \text{weglichkeit muß 50\% über-} \\ \text{schreiten.}$$

Beispiel:

I: 20% Mot. II: 70% Mot.

$$\frac{II}{I} = \frac{7}{2} = 3,5 \text{ (Test positiv)}$$

Die Prozentangaben der Beweglichkeit sind nicht zu einer Kontrolle in Relation gesetzt, sondern drücken nur den Anteil der beweglichen Spermatozoen zu den unbeweglichen im Gesichtsfeld des Mikroskops aus. Beispiel: Bewegen sich von 10 sichtbaren Spermien 8, dann beträgt die Motilität 80%. Die Intensität der Bewegungen der Spermatozoen wurde gesondert berücksichtigt.

Als Komplementmenge wurde entsprechend den Ergebnissen der Vorversuche 0,0025 ml gewählt. Es wurde Meerschweinchenkomplement der Behringwerke verwendet. Die Testreihen wurden mit den Serumverdünnungen 1:2 und 1:4 durchgeführt. Dabei wurde jedes Patientenserum mit und ohne Komplementzusatz getestet. Bei jedem Versuch wurden Kontrollseren mitverwendet, und die Motilität des Testejakulates während der Inkubationszeit beobachtet. Allerdings konnte bei den verwendeten Normospermien während der Versuchsdauer niemals eine Motilitätsabnahme festgestellt werden. Zeigte ein Serum in der ersten Untersuchung eine Motilitätsreduktion, die auf eine Immobilisation schließen ließ, so wurde es in weiteren Testreihen ausstitriert. Danach wurden die sicher positiven Seren in einer Versuchsreihe unter Verwendung eines Testejakulates mit verschiedenen Kontrollseren verglichen.

γ) Immunfluoreszenztest (indirekte Technik)

Voraussetzung:

- a) F T A-Puffer (gepufferte phys. Kochsalz-
lösung)

Auf 1 Liter Aqua dest. kommen:

NaCl	8,5 g
Na ₂ HPO ₄ (wasserfrei)	1,07g
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	0,39g

Mit großem Magnetrührer auflösen.

pH 7,0 mit pH-Papier kontrollieren.

- b) Patientenserum bei 56°C 30 Min. inaktivieren.

- c) Objektträger in einer Mischung aus Aceton
und Alkohol (1:1) fettfrei machen.

(ca. 3 Stunden)

Testansatz:

Patientenserum mit F T A-Puffer 1:5 verdünnen.
Testejakulat bei 1200 - 1800 U/Min. mit F T A-
Puffer ca. dreimal waschen. Mit leicht verdünntem
Sediment einen Ausstrich machen. Bei Zimmertemperatur
ca. drei Stunden trocknen lassen. Gute Stelle mit
Diamantschreiber umkreisen.

Dann die Ausstriche 10 Min. in Aceton fixieren.
Aceton trocknen lassen bzw. an der Objektträger-
unterseite mit Lappen abwischen. Die Objektträger
müssen immer wieder in die feuchte Kammer
gelegt werden, um eine Austrocknung zu verhindern.

Serumverdünnung wird auf den Kreis aufgetragen.
Danach 30 Min. bei 37°C in feuchter Kammer inkubieren.
Überschüssiges Serum abschütten und die Objektträger
30 Min. in F T A-Puffer waschen. Dabei alle 10 Min.
Puffer wechseln. Objektträgerunterseite mit Lappen
abwischen. Mit fluores-

zenzgekoppeltem Antihumangammaglobulin beschicken und wie oben inkubieren und anschließend waschen. Einen Tropfen Glycerin in den Kreis geben und ein Deckglas darüber legen. Testergebnis sofort unter dem Fluoreszenzmikroskop ablesen.

Beurteilung:

Bei positivem Test verschieden starkes Leuchten von Akrosom, Kopf, Mittelstück oder (und) Geißel der Spermatozoen.

Als Antiserum diente fluoreszenzmarkiertes Anti-Humangammaglobulin-Serum (Lyophil getrocknetes, fluoreszeinisocyanatgekoppeltes Anti-Humangammaglobulin-Serum (Anti IgH, Anti Igm, Anti IgA) der Fa. Roboz, Amsterdam, Holland. Verdünnung 1:4 mit Aqua bidest.) Für die Testreihen wurden Ausstriche mit Spermatozoen verschiedener Spender angefertigt. Blutseren mit einer auffälligen Fluoreszenz wurden noch einmal überprüft. Bei jeder Versuchsreihe wurden Kontrollseren gesunder Probanden mitverwendet.

4. Ergebnisse

Mit diesen drei Untersuchungsmethoden wurden die Blutseren von 279 Männern auf Autoantikörper gegen Spermatozoen getestet.

a) Makroskopischer Agglutinationstest nach Kibrick

Bei 5 Blutseren zeigte sich im Test eine Flockenbildung. Es fehlte jedoch das charakteristische Sediment. Bei höheren Verdünnungen dieser Seren nahm die Flockung ab und es bildete sich ein dichtes, homogenes Sediment, das nicht als spezifisch anzusehen war. Auch wies der Überstand nicht die Klarheit auf, wie sie bei positiven Reaktionen vorhanden sein muß. Bei weiteren drei Seren zeigte sich ein weißlich schaumiger Ring an der Oberfläche des Röhrcheninhaltes. Große, flockige Zusammenballungen waren bis zu einem Drittel über dem Reagenzglasboden zu sehen. Eine Sedimentbildung konnte in diesen Fällen nicht beobachtet werden. Diese Blutseren waren nach

dem Abzentrifugieren der festen Blutbestandteile trüb, wobei es sich wahrscheinlich um Lipoproteine im Serum handelte. Diese schienen das Aussehen des Testbildes zu verursachen.

Von den 279 getesteten Seren zeigten drei die positiven Reaktionen einer spezifischen Agglutination, wie sie bereits in den Vorversuchen beschrieben wurden. Allerdings waren bei allen drei Seren nach der Untersuchung mit verschiedenen Ejakulaten keine so klar positiven Bilder zu erreichen, wie sie sich im Tierversuch mit den antikörperhaltigen Kaninchenserum zeigten. Der Antikörpertiter lag aber bei allen Seren über 1:32, jedoch nicht höher als 1:128.

Die Anamnesen der drei Patienten mit Autoantikörpern im Serum sahen folgendermaßen aus:

Ein Patient konnte keinerlei Angaben über pathologische, traumatische oder infektiöse Schädigungen im Urogenitalbereich machen. Der Grund, die andrologische Sprechstunde aufzusuchen, war eine drei Jahre lange Kinderlosigkeit seiner Ehe. Das Spermogramm des Patienten ergab folgende Werte: pH: 7,0; Menge: 5 ml; Spermienzahl: 45 Mill/ml; Motilität: 60%. Auffallend war das vermehrte Auftreten von pathologischen Samenzellen. Es lag keine Spontanagglutination im Nativpräparat vor. Der zweite Patient gab an, 1944 aus russischen Gründen vasektomiert worden zu sein. Am 21.6.1972 wurde eine Reanastomierung vorgenommen, die allerdings ohne Erfolg blieb. Bei dem Patienten lag eine Azoospermie vor. Der dritte Patient kam zu einer Kontrolluntersuchung nach einer Vasektomie, die ein halbes Jahr zurück lag. Das Spermogramm ergab eine Azoospermie.

b) Immobilisationstest nach Isojima

Von den 279 getesteten Blutseren zeigten zwei eine deutliche Motilitätsreduktion von mehr als 50% gegenüber der Kontrolle und dem Testansatz ohne Komplementzugabe. Der Quotient der Immobilisation betrug in einem Fall 7, im anderen 3. Bei keinem weiteren Serum konnte ein Immobilisationsquotient von über 2 erreicht werden, d.h. es lag nach der Beurteilungs-

skala keine Immobilisation vor. Wie schon im Tierversuch, so konnten auch hier bei einigen Seren Agglutinationen unter dem Mikroskop nach der Inkubationszeit beobachtet werden. Außer bei den immobilisinhaltigen Seren kamen diese Agglutinationen sowohl in den Testansätzen mit als auch ohne Komplementzusatz vor. Bei 9 Patienten agglutinierten die Spermatozoen im Serum mit einer Häufigkeit von 10% - 30%. In drei Fällen war eine Agglutination von über 30% der Spermatozoen zu beobachten. Diese Seren waren im makroskopischen Agglutinationstest positiv. In weiteren 9 Fällen konnten vereinzelte Agglutinationen im Testansatz unter dem Mikroskop beobachtet werden.

In 20 von all diesen Fällen war die Kopf-zu-Kopfagglutination vorherrschend, bzw. nur vorhanden. In einem Serum kamen nur Schwanzagglutinationen vor. Bei beiden Seren, die eine Immobilisation zeigten, konnten auch mikroskopisch Agglutinationen festgestellt werden. Diese traten aber nur in den Testansätzen ohne Komplementzugabe auf. Ein Serum war auch im makroskopischen Agglutinationstest positiv. Es handelte sich hierbei um den Patienten, der ein halbes Jahr zuvor vasktomisiert wurde, und in dessen Spermiogramm eine Aspermie vorlag.

Die Anamnese des zweiten Patienten mit Immobilisinen im Serum lautete folgendermaßen:

Der 29jährige Patient litt seit seinem 16. Lebensjahr unter epileptischen Anfällen. Eine antikonvulsive Behandlung erfolgte mit Mylepsin. Angaben über Veränderungen oder Erkrankungen im Urogenitalbereich konnte der Patient nicht machen. Sein Spermiogramm ergab folgende Werte:

pH: 7,0; Menge: 4,8 ml; Spermienzahl: 53 Mill/ml; Mot.: 70 %.

c) Immunfluoreszenztest:

Bei sämtlichen Ausstrichen konnte eine schwache Eigenfluoreszenz, die alle Teile der Spermatozoen umfaßte, beobachtet

werden. In diesem Test konnte nur bei einem Serum eine spezifische Fluoreszenz der Spermatozoen festgestellt werden, die auf die Kopfkappen der Spermatozoen beschränkt war. Allerdings wiesen nur etwa 50 % der Spermatozoen im Ausstrich eine spezifische Fluoreszenz auf, die sich in einem weiteren Versuch reproduzieren ließ. Ein besseres Ergebnis konnte auch in einer weiteren Versuchsreihe nicht erzielt werden. Alle anderen Blutseren waren unauffällig.

d) Korrelation der Untersuchungsergebnisse

Von den 279 getesteten Blutseren enthielten drei Agglutinine, zwei Immobilisine und eines bewirkte eine Fluoreszenz des Akrosoms der Spermatozoen. Ein Patientenserum zeigte sowohl im makroskopischen Agglutinationstest als auch im Immunfluoreszenztest ein positives Ergebnis. Wie schon oben erwähnt, kam dieser Patient wegen einer seit drei Jahren kinderlosen Ehe zu einer Kontrolluntersuchung in die andrologische Sprechstunde (Spermiogrammwerte siehe S. 27). Ein weiteres Serum enthielt sowohl Agglutinine als auch Immobilisine. Es handelte sich um den Patienten, der sich ein halbes Jahr vor der Blutentnahme vasektomieren ließ und dessen Spermiogramm eine Aspermie zeigte. Die Untersuchungsergebnisse wiesen sonst keine Zusammenhänge auf.

Auffallend waren noch die Agglutinationserscheinungen, die beim Immobilisationstest aufgetreten waren. Dabei zeigte sich bei den drei im makroskopischen Agglutinationstest positiven Seren eine Agglutinationshäufigkeit der Spermatozoen von 40%-70% unter dem Mikroskop.

Die folgende Tabelle gibt einen Aufschluß über die Ergebnisse unserer Untersuchungen und setzt sie zueinander in Relation. Außerdem wurden die mikroskopisch beobachteten Agglutinationshäufigkeiten und der Agglutinationstyp berücksichtigt.

Serum Nr.	Agglutinierte Spermatozoen%	Kopf-zu- Kopf-Aggl.	Schwanz- Aggl.	E r g e b n i s s e		
				Makr. Aggl. Test	Immobil. Test	Immunfluoresz. Test
19	20	+	-	-	-	-
39	70	+	-	+	-	+
44	60	+	-	+	-	-
54	20	+	-	-	-	-
63	<5	+	-	-	-	-
99	<5	+	-	-	-	-
111	30	+	-	-	-	-
114	1 Aggl.	+	-	-	-	-
121	1 Aggl.	+	-	-	-	-
131	10	+	-	-	-	-
133	10	-	+	-	-	-
142	1 Aggl.	+	-	-	-	-
176	10	+	-	-	-	-
187	<5	+	-	-	-	-
198	10	+	-	-	-	-
219	<5	+	-	-	-	-
222	10	+	-	-	-	-
225	40	+	-	+	+	-
236	<5	+	-	-	+	-
249	30	+	-	-	-	-
250	10	+	-	-	-	-

IV. Diskussion:

Unsere Untersuchungen wurden durchgeführt, um an einem un-
ausgelesenen männlichen Patientengut die Häufigkeit im Serum
zirkulierender Autoantikörper gegen Spermatozoen festzustellen.
Weiterhin sollte die Brauchbarkeit der drei Untersuchungsme-
thoden und deren Aussagekraft für Routineuntersuchungen darge-
stellt werden.

In Vorversuchen wurden Heteroantikörper gegen menschliche
Spermatozoen im Kaninchenkörper erzeugt. Das Antigen wurde
mit Freund'schem Adjuvans versetzt injiziert. Die gesteigerte
antigene Wirksamkeit (15) und die erhöhte Permeabilität der
Blut-Testis-Schranke (19) dieser Suspension sollte ausgenützt
werden. Der Nachweis einer immunologischen Reaktion im Blut-
serum der Tiere wurde mit den gleichen Methoden erbracht,
mit denen später Autoantikörper im Serum männlicher Patienten
gefunden werden sollten. Beide Versuchstiere entwickelten einen
hohen Antikörperspiegel, der mit allen drei Testmethoden nach-
gewiesen werden konnte. Der Antikörpertiter der Tiere lag im
makroskopischen Agglutinationstest bei 1:4096 bzw. 1:2048, im
Immunfluoreszenztest bei 1:3200 bzw. 1:1600 und im Immobilisa-
tionstest bei 1:256 bzw. 1:512.

Bei allen drei Testanordnungen muß von einer subjektiven Bewer-
tung des Ergebnisses ausgegangen werden.

Im makroskopischen Agglutinationstest spielt die Qualität des
Testejakulates eine entscheidende Rolle. Unterschiede in der Mo-
tilität, der Spermienzahl und Verunreinigungen durch Rundzellen,
Epithelien und Zelldebris erschweren das Ablesen und verfälschen
den Test. Ferner wurde beobachtet, daß von der Güte des verwen-
deten Ejakulates auch die Titerbestimmung und die Titerhöhe ab-
hängig waren. Das gleiche Serum, mit verschiedenen Testejakula-
ten inkubiert, ergab in ganz wenigen Fällen übereinstimmende Ti-
terhöhen. Erhebliche Schwierigkeiten beim makroskopischen
Agglutinationstest stellt die Beschaffung geeigneten Testejakula-
tes dar, wenn er in großem Rahmen durchgeführt werden soll.
Ein sehr wichtiger Punkt beim Ablesen des Testes ist der Ver-

gleich mit der Kontrolle. Zu jeder Testreihe sollten daher mehrere NaCl-Kontrollröhrchen angefertigt werden. Diese müssen nach der Inkubationszeit unbedingt mit den Teströhrchen zusammen betrachtet werden. Ohne diesen Vergleich läßt sich der makroskopische Agglutinationstest kaum beurteilen. Eine Erleichterung im Auffinden von positiven Seren stellt auch die Beobachtung der Testreihe während der Inkubationszeit dar. Nach ca. einer Stunde im Brutschrank konnten wir bei positiven Testseren bereits eine Ausflockung feststellen, die sich deutlich von den Kontrollen und den negativen Blutseren unterschied. Allerdings darf dieses Verfahren nicht zur Abkürzung der Inkubationszeit verleiten. Beim makroskopischen Agglutinationstest ist eine Austitrierung der Seren bis über 1:32 unbedingt notwendig. Ansonsten könnten unspezifische Reaktionen, die in höherer Serumkonzentration häufig vorkommen, ein irreführendes Testergebnis bewirken.

Der Immobilisationstest nach Isojima ist ebenso von der optimalen Qualität des Testejakulates abhängig, wobei hier die Motilität eine entscheidende Rolle spielt. Ejakulate mit einer Motilität unter 70% müssen als ungeeignet angesehen werden. Ein Vorteil gegenüber dem makroskopischen Agglutinationstest ist der geringere Materialbedarf bei großen Testansätzen. Bei der Beurteilung des Immobilisationstests wird sowohl die Relation der beweglichen zu den unbeweglichen Spermatozoen bewertet als auch deren Motilitätsintensität. Wir werteten den Test positiv, wenn der Immobilisationsquotient von Röhrchen $\frac{II}{I}$ größer oder gleich 2 war; d.h. die Reduktion der Beweglichkeit mußte 50% überschreiten. Dieses Bewertungsschema geht auf Isojima (16) und Lehmann (23) zurück. In einer neueren Untersuchung von Krieg und Reißmann (21) wird jedoch eine Verschiebung dieses Quotienten auf 4 zur Diskussion gestellt. Inwieweit diese Forderung die Spezifität des Tests erhöht, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten sein. Eine Titerbestimmung beim Immobilisationstest ist erforderlich, um unspezifische Reaktionen auszuschalten. Nach der Inkubationszeit darf beim Teströhrchen auf keinen Fall eine Motilitätsveränderung auftreten. In unseren Versuchsreihen wurden beim Immobilisationstest nie so hohe Antikörpertiter erreicht wie im makroskopischen Agglutinationstest. Dies gilt so-

wohl für die Tier- als auch Patientenversuche. Im Vorversuch zeigte sich eine geringe Motilitätshemmung der Spermatozoen bei Komplementüberschuß. Wir stellten daher Testreihen mit verschiedenen Komplementzugaben auf. In Übereinstimmung mit Lehmann (23) kamen wir zu dem Ergebnis, daß eine Komplementzugabe von 0,002 ml die besten Resultate brachte. Komplementzugaben von über 0,005 ml bewirkten bereits eine Motilitätsverminderung, die zu Ablesungenauigkeiten im Grenzfall führte. Ferner fiel auf, daß die Beweglichkeit der Spermatozoen im konzentrierten Serum größer war, als in höherer Serumverdünnung mit größerem Kochsalzanteil. Ab einer Serumverdünnung von ca. 1:200 trat eine Motilitätsreduktion um ca. 20% gegenüber dem Testejakulat auf. Versuche mit anderen Lösungen brachten keine besseren Resultate.

Da der Immobilisationstest im Prinzip dem mikroskopischen Agglutinationstest entspricht, konnten bei der Auswertung unter dem Mikroskop gleichzeitig agglutininhaltige Seren erkannt werden. Die Agglutinationen zeigten sich sowohl im inaktivierten als auch im komplementhaltigen Serum. Nur bei immobilisinhaltigen Seren waren im Testansatz mit Komplementzugabe keine oder nur wenige Agglutinationen zu beobachten. Der rasche Motilitätsverlust der Spermatozoen ließ keine Agglutinationen entstehen.

Wir fanden bei insgesamt 21 Patientenseren eine Agglutinationshäufigkeit der Spermatozoen unter dem Mikroskop von einer Agglutination bis zu 70%. In drei Fällen lag der Prozentsatz der agglutinierten Spermatozoen bei 40%, 60% und 70%. Diese drei Seren zeigten auch im makroskopischen Agglutinationstest eine positive Reaktion. Bei Blutseren mit bis zu 30% Agglutinationshäufigkeit der Spermatozoen fiel der makroskopische Agglutinationstest negativ aus. Ob sich hieraus bereits der Schluß ziehen läßt, daß der mikroskopische Agglutinationstest unspezifischer reagiert, bleibt offen. Nach unseren Erfahrungen muß allerdings eine Agglutinationshäufigkeit der Spermatozoen von mindestens 40% vorliegen, damit der makroskopische Agglutinationstest anspricht.

Die Agglutinationstypen konnten nur in Kopf-zu-Kopf- bzw. Schwanz-zu-Schwanz-Agglutinationen unterschieden werden. Von den 21 beschriebenen Blutseren zeigte sich nur bei einem eine Schwanz-zu-

Schwanz-Agglutination, wobei die Geißeln der Spermatozoen bis fast zum Mittelstück verklebt waren. Alle übrigen Seren bewirkten reine Kopf-zu-Kopf-Agglutinationen. Es waren selten mehr als 10 Spermatozoen in einer Agglutination zusammengefaßt. Die Motilität dieser Spermatozoen war immer gut. Größere Aggregationen wurden als unspezifisch angesehen. Außerdem konnte bei diesen Spermatozoenansammlungen kein bestimmter Agglutinationstyp erkannt werden. Zu ähnlichen Feststellungen gelangte auch W.R. Jones (18) in seinen Untersuchungen.

Der Immunfluoreszenztest zeigte nur in einem Fall eine positive Reaktion. Wie im Tierversuch, so leuchteten auch hier nur die Köpfe der Spermatozoen, die zum übrigen Spermatozoenkörper scharf abgegrenzt waren. Leuchterscheinungen an anderen Teilen der Samenzelle, die über die Autofluoreszenz hinausgingen, konnten nicht festgestellt werden.

Der in unserer Arbeit relativ niedrige Anteil von autoantikörperhaltigen Blutseren an der Anzahl der untersuchten Patienten gemessen, hat sicherlich mehrere Ursachen. Neben den oben erwähnten testbedingten Faktoren spielte das unausgelesene Patientengut, das in einer bestimmten Zeitspanne untersucht wurde, eine entscheidende Rolle. Damit war der Zweck verbunden, die Bedeutung autoimmunologischer Erkrankungen aus andrologischer Sicht zu bewerten.

Ein Vergleich mit Ergebnissen aus der Literatur ist deshalb nur schwer möglich, weil die meisten Autoren ihre Untersuchungen an bestimmten, ausgewählten Personengruppen vornahmen. Die umfangreichsten Untersuchungen stammen von Rümke und Hellinga (34). Sie fanden unter 2015 untersuchten Seren 67 mit Spermagglutininen. Heute umfaßt das Schrifttum Berichte über mehr als 5000 untersuchte Männer, von denen je nach Auswahl und angewandten Testverfahren 1,7% bis 12% Spermagglutinine im Serum aufwiesen (8). Von unseren drei Patienten, die Spermagglutinine im Serum aufwiesen, waren zwei vasektomiert. Der hohe Anteil vasektomierter Patienten mit Agglutininen im Serum wird durch Untersuchungen verschiedener Autoren bestätigt. Bereits 1964 stellten Phadke und Padukone (32) dieses Phänomen fest. Neuere Untersuchungen stammen von Ansbacher (2) und Schill et al. (42). Der ein halbes Jahr

vor dem Test vasektomierte Patient hatte in seinem Serum sowohl Agglutinine als auch Immobilisine mit dem höchsten Titer von allen positiven Seren.

Der Immobilisationstest mit rein männlichem Patientengut wurde in dieser Form von anderen Autoren bisher nicht durchgeführt. Vergleichszahlen liegen daher nur mit gemischtem bzw. weiblichem Patientengut vor. Isojima (17), Lehmann (23) und Krieg (21) stellten derartige Untersuchungen an. Eine absolute Festlegung der Titerhöhe bei Agglutininen im Serum und des Immobilisationsquotienten bei Immunobilisinen im Serum für signifikant positive Resultate ist bisher nicht gelungen. Prozentuelle Unterschiede in den Endergebnissen gehen daher auf die unterschiedliche Festsetzung dieser Werte in der Literatur zurück. Beim Vergleich der Testergebnisse unserer drei Untersuchungsmethoden konnte schon der geringen Anzahl der positiven Ergebnisse wegen keine zwingende Korrelation gefunden werden. Die Frage nach Zusammenhängen zwischen Spermienantikörpern und Fertilität ist bis heute von den Autoren noch nicht zufriedenstellend beantwortet. Auch unsere Untersuchungen können dazu keine Aussage machen. Abschließend kann aus den Ergebnissen unserer Arbeit der Schluß gezogen werden, daß Autoantikörper gegen Spermatozoen beim Mann aus andrologischer Sicht nur eine untergeordnete Rolle spielen.

V. Zusammenfassung:

Die Antigene des Samens und des Samenplasmas werden beschrieben. Die Entstehung von Autoantikörpern im Tierversuch wird aufgezeigt. Von den Tierversuchen ausgehend werden Rückschlüsse auf die Bildung von Autoantikörpern beim Mann angestellt. Eine gesteigerte Resorption von Ejakulatbestandteilen, besonders als Folge von Samenleiterverschlüssen oder entzündlichen Prozessen, begünstigt die Antikörperbildung gegen Spermatozoen. Die prozentualen Anteile antikörperhaltiger Seren zu normalen Seren, die mit dem makroskopischen Agglutinationstest, dem Immobilisationstest und der indirekten Immunfluoreszenztechnik gefunden wurden, werden angeführt. Differierende Prozentangaben über positive Reaktionen bei den einzelnen Testmethoden unter annähernd gleichen Bedingungen, gehen auf die subjektiven Auswertungsverfahren und die unterschiedliche Auffassung der Autoren von Titerhöhe und Grenzwertbestimmung für spezifische Reaktionen zurück.

In eigenen Untersuchungen wurden Heteroantikörper im Kaninchen-serum erzeugt. Der Nachweis wurde mit den oben angegebenen Methoden durchgeführt und die Testanordnungen auf ihre Aussagekraft geprüft. Dann wurden die Seren von 279 Männern eines un-
ausgelesenen Patientengutes mit den gleichen Methoden getestet. Beim makroskopischen Agglutinationstest wurden 3, beim Immobilisationstest 2 und beim Immunfluoreszenztest 1 sicher positive Reaktion entdeckt. Unter den Seren mit Autoantikörpern befanden sich 2 von vasektomierten Patienten. Vergleiche mit den Ergebnissen in der Literatur werden angestellt, und die Schwierigkeiten und Fehlerquellen bei der Auswertung beschrieben. Eine Korrelation zwischen den Versuchsergebnissen konnte nicht hinreichend bewiesen werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ANSBACHER, Rudi, KWOK Keung and S.J. BEHRMAN:
 Clinical Significance of Sperm Antibodies in
 Infertile Couples.
 Fert. & Steril. 24 (4): 305 - 308; (1973)

- 2 ANSBACHER, R.:
 Vasektomie: Sperm Antibodies
 Fert. & Steril. 24 (10): 788-791; (1973)

- 3 BANDHAUER, K.:
 Immunbiologisch bedingte Fertilitätsstörungen
 des Mannes.
 Wiener Klin. Wochenschr. 35: 652-654; (1968)

- 4 BAUM, J.:
 Reaction of guinea pig spermatozoa with homolo-
 gous antibody as demonstrated by fluorescent
 staining.
 Lancet I, 810; (1959)

- 5 - :
 Autosensitisation by Sperm in Guinea Pigs.
 Immunology 4: 95; (1961)

- 6 BECK, J.S., EDWARDS R.G., YOUNG M.R.:
 Immune Fluorescence Technique and the Isoanti-
 genicity of Mammalian Spermatozoa.
 J. Reprod. Fert. 4: 103-110; (1962)

- 7 FELTKAMP, T.E.W. and K. KRUYFF:
 Autospermagglutinins: Immunfluorescent Studies.
 Ann. N. Y. Acad. Sci. 124: 702-708; (1965)

- 8 GÜNTHER, E.:
 Immunologische Aspekte der männlichen Inferti-
 lität.
 Hautarzt 20 (10): 433-438; (1969)

- 9 GÜNTHER, E.:
Zur Pathogenese der Autoantikörper gegen
Spermien.
Derm. Mschr. 157: 381-390; (1971)
- 10 - :
Die immunologisch bedingte Orchitis.
Andrologie 4: 157-160; (1972)
- 11 - :
Immunreaktionen gegen Spermien und ihre kli-
nische Bedeutung.
Derm. Mschr. 158: 9-13; (1972)
- 12 HAENSCH, R.:
Autoimmunpathologische Fertilitätsstörungen
des Mannes.
Fortschr. Med. 88: 202-204; (1970)
- 13 HANSEN, K.B., T. HJORT:
Immunfluoreszent Studies on Human Spermatozoa.
Clin. Exp. Immunol. 9: 21-31; (1971)
- 14 HEKMAN, Annemarie and RÜMKE Ph.:
The Antigens of human seminal plasma.
Fert. & Steril. 20 (2): 312-332; (1969)
- 15 HORNSTEIN, O.:
Probleme der sogenannten Sperma-Immunität.
Urologe 3 (4): 211-216; (1964)
- 16 ISOJIMA, Shinzo, Tian Shun Li Ashitaka:
Immunologic analysis of sperm-immobilizing factor
found in sera of women with unexplained sterility.
Am. J. Obst. & Gynec. 101 (5): 677-683; (1968)

- 17 ISOJIMA, Shinzo, Tian Shun Li Ashitaka:
Further studies on sperm-immobilizing antibody
found in sera of unexplained cases of sterility
women.
Am. J. Obst. & Gynec. 112 (2): 199-207; (1972)

- 18 JONES, W.R., R.M.Y. ING and M.D. KAYE:
A Comparison of Screening Tests for Anti-Sperm-
Activity in the Serum of Infertile Women.
J. Reprod. Fert. 32: 357-364; (1973)

- 19 KATSCH, S., LEAVER, F.W., KATSCH, G.F., WILLSON, J.T.:
Circulating Antibody Titers in Relation to Fer-
tility: I. Male Guinea-Pigs.
Fert. & Steril. 22 (7): 456-461; (1971)

- 20 KIBRICK, S., BELDING, D.L. and MERRIL, B.:
Methods for the Detection of Antibodies against
Mammalian Spermatozoa.
Fert. & Steril. 3 (5): 430-438; (1952)

- 21 KRIEG, H., REISSMANN G.:
Methodik und klinische Bedeutung des Nachwei-
ses von Spermaantikörpern.
Med. Klin. 68: 1591-1596; (1973)

- 22 LANDES, E., H. MÜLLER:
Männliche Fertilitätsstörungen -
Prophylaxe, Diagnostik und Therapie aus andro-
logischer Sicht.
Fortschr. Med. 91 (4): 163-166; (1973)

- 23 LEHMANN, F., D. KREBS und B. BÜDEL:
Erfahrungen mit dem Spermaimmobilisations-
test nach Isojima.
Ärztl. Lab. 18 (7): 252-258; (1972)

- 24 LÜDERS, G., ADAM, W.:
Zur Abgrenzung von Immunreaktionen bei männlichen Fertilitätsstörungen.
Andrologie 2 (2): 49-54; (1970)
- 25 MANCINI, R.E., O.W. DAVIDSON, O.VILAR, M.NEMIROVSKY
and D.C. BUENO:
Localisation of Anchrosomal Antigenicity in Guinea Pig Tests.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 111: 435-438; (1962)
- 26 MAZZOLLI, A.B.:
Demonstration in vitro of Delayed Hypersensitivity in Experimental Allergic Orchitis in Guinea-Pigs.
J. Reprod. Fert. 26: 161-166; (1971)
- 27 OUCHTERLONY, Orjan:
Handbook of Immundiffusion and Immunelektrophoresis.
5. Auflage, August 1971
- 28 PAPASOV, Br. und E.M. ENTSCHEV:
Nachweis von "Spermienantikörpern" beim Weibe als Sterilitätsursache.
Zbl. Gyn. 85 (43): 1542-1548; (1963)
- 29 PETZOLDT, D.:
Die Immunfluoreszenztechnik in der Diagnostik von Geschlechtskrankheiten.
Fortschr. Med. 86 (18): 799-802; (1968)
- 30 - :
Immunologische Fertilitätsstörungen des Mannes.
Sonderdruck aus: Der Hautarzt Mskr. 953: 1-2; (1972)

- 31 PETZOLDT, D.:
Immunologische Aspekte der Infertilität.
Vortrag; VII. Fortbildungskurs für praktische
Dermatologie und Venerologie in München.
22.-27. Juli 1973
- 32 PHADKE, A.M. and K. PADUKONE:
Presence and Significance of Autoantibodies
against Spermatozoa in the Blood of Men with
Obstructed Vas Deferens.
J. Reprod. Fertil. 7: 163-170; (1964)
- 33 RANGNEKAR, Kishori N. and RAO, Shanta S.:
The Source of Blood Group Antigens on Sperma-
tozoa and Their Significance.
Int. Arch. Allergy 37: 49-53; (1970)
- 34 RÜMKE, P.H. and G. HELLINGA:
Autoantibodies against Spermatozoa in sterile Men.
American Journal of Clinical Pathology 32 (4):
357-363; (1959)
- 35 RÜMKE, P.H.:
Antigenicity of Spermatozoa.
Textbook of Immunopathology II: 665-674
- 36 - :
Autoantibodies to sperm in man.
Imm. Sperm. and Fertil.: 179-185; (1969)
- 37 - :
Autoimmunität gegen Spermatozoen.
Sonderdruck aus: "Autoimmunerkrankungen -
Klinik und Therapie"
F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart-New-York;
(1969)

- 38 RÜMKE, P.H.:
Klinische Aspekte der Autoimmunität gegen
Spermatozoen beim Menschen.
Arzneim.Forsch. 20 (2): 174-181; (1970)
- 39 RÜMKE, P.H. and M. TITUS:
Spermaagglutinin formation in male rats by sub-
cutaneously injected syngeneic epididymal sper-
matozoa and by vasoligation or vasectomy.
J. Reprod.Fert. 21: 69-79; (1970)
- 40 - :
Autoimmunität gegen Spermatozoen und Un-
fruchtbarkeit des Mannes.
Andrologie 4 (3): 191-200; (1972)
- 41 SCHILL, W.-B., SCHUMACHER, F.B.:
Micro Radial Diffusion in Gel.
Reprinted from "The Biology of the Cervix",
edited by R.J. Blandau and K. Moghissi, publi-
shed by the University of Chicago Press (1973)
- 42 SCHILL, W.-B., HOFSTETTER A. and M. STOCK:
Zur Frage der Autoantikörperbildung nach frei-
williger Vasektomie.
Urologe (im Druck)
- 43 SHULMANN, S.:
Antigenität und Autoimmunität bei der ge-
schlechtlichen Fortpflanzung.
Dtsch. Ärzteblatt 67 (45): 3342-3347; (1970)

Herrn Prof. Dr. Detlef Petzoldt danke ich sehr
herzlich für die Überlassung des Themas.

Herrn Dr. Wolf-Bernhard Schill sei großer Dank
ausgesprochen für die immer bereitwillige Unter-
stützung bei den Versuchen und für die liebenswür-
digen Beratungen.

LEBENS LAUF

Als Sohn des Zahnarztes Hans Kammerl und seiner Ehefrau Gertraud, geb. Weigel wurde ich am 31. Dezember 1948 in Ulm a.d. Donau geboren.

1954 kam ich in die Volksschule. Von 1958 bis 1966 besuchte ich das Realgymnasium in Neu-Ulm. Anschließend wechselte ich auf die Schwarzwaldschule nach Triberg über, wo ich 1969 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1969 begann ich an der Universität München das Studium der Zahnheilkunde. Die zahnärztliche Vorprüfung bestand ich im Frühjahr 1972.

